

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2017 hingga Juni 2017, di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat yang dipergunaan pada penelitian ini meliputi mortal dan martil untuk menghancurkan bahan (daun kelor, kulit buah naga dan wortel), timbangan analitik digital AAA 250 LL, color reader CR 10, *mixer* merk miyako, sendok, blender merk Philip, pisau, spatula, talenan, labu ekstraksi, corong kaca, gelas ukur, tabung reaksi merk Iwake, erlemeyer Iwake, pipet volume Pirex, bola hisap, statif, pendingin balik, buret, sentrifuse, wadah *stainless steel*, oven, *hot plate stirrer*, *freezer*, *spektrofotometer* UV-Vis Genesys 20, *aluminium foil*, cawan porselen, labu lemak, soxhlet, kondensor, desikator, vortex Maxi Mix plus, *waterbath* merk Dgital Thermost, timbel, kamera dan perlengkapan alat tulis lainnya.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini ada dua bahan baku ekstrak pigmen, yaitu, kulit buah naga yang diperoleh dari kulit buah naga penjual jus Tirto Utomo dan buah tomat dengan tingkat kematangan sempurna (*Repening*) dari penjual jus di daerah Tirto Utomo dengan-Malang. Bahan-bahan untuk pembuatan es krim diperoleh dari Toko bahan baku kue Prima antara lain gula, susu *full cream*

bubuk, *susu skim* dan Susu fermentasi (yoghurt). Bahan-bahan kimia untuk analisa diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan dan Makmur seperti aquades, kertas saring whatman no. 41, petroleum eter (PE). DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,2%, NaOH 3,25%, etanol 95%, indikator PP, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Natrium Thiosulfat), KI 20%, amilum, larutan luff school CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*), air, aquades.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahapan, tahap ke-1 akan dilakukan pembuatan konsentrat pigmen antosianin dari Kulit buah Naga dan buah Tomat. Penelitian tahap ke-2 dilakukan aplikasi berbagai pigmen antosianin pada proses pembuatan es krim yoghurt dengan 3 macam konsentrasi ekstrak pigmen (10%, 12,5% dan 15%). Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang disusun secara sederhana atau non faktorial dengan faktor variasi sumber ekstrak pigmen dan konsentrasi penambahannya sebanyak 9 level dengan 3 ulangan, secara rinci perlakuan yang diteliti adalah:

P1= Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 10% b/b

P2= Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 12,5% b/b

P3= Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 15% b/b

P4= Ekstrak Pigmen Buah Tomat 10% b/b

P5= Ekstrak Pigmen Buah Tomat 12,5% b/b

P6= Ekstrak Pigmen Buah Tomat 15% b/b

P7= Kombinasi Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 5% b/b: Ekstrak Pigmen Buah Tomat 5% b/b

P8= Kombinasi Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 6,25% b/b: Ekstrak Pigmen Buah

Tomat 6,25% b/b

P9= (Kombinasi Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga 7,5% b/b: Ekstrak Pigmen Buah

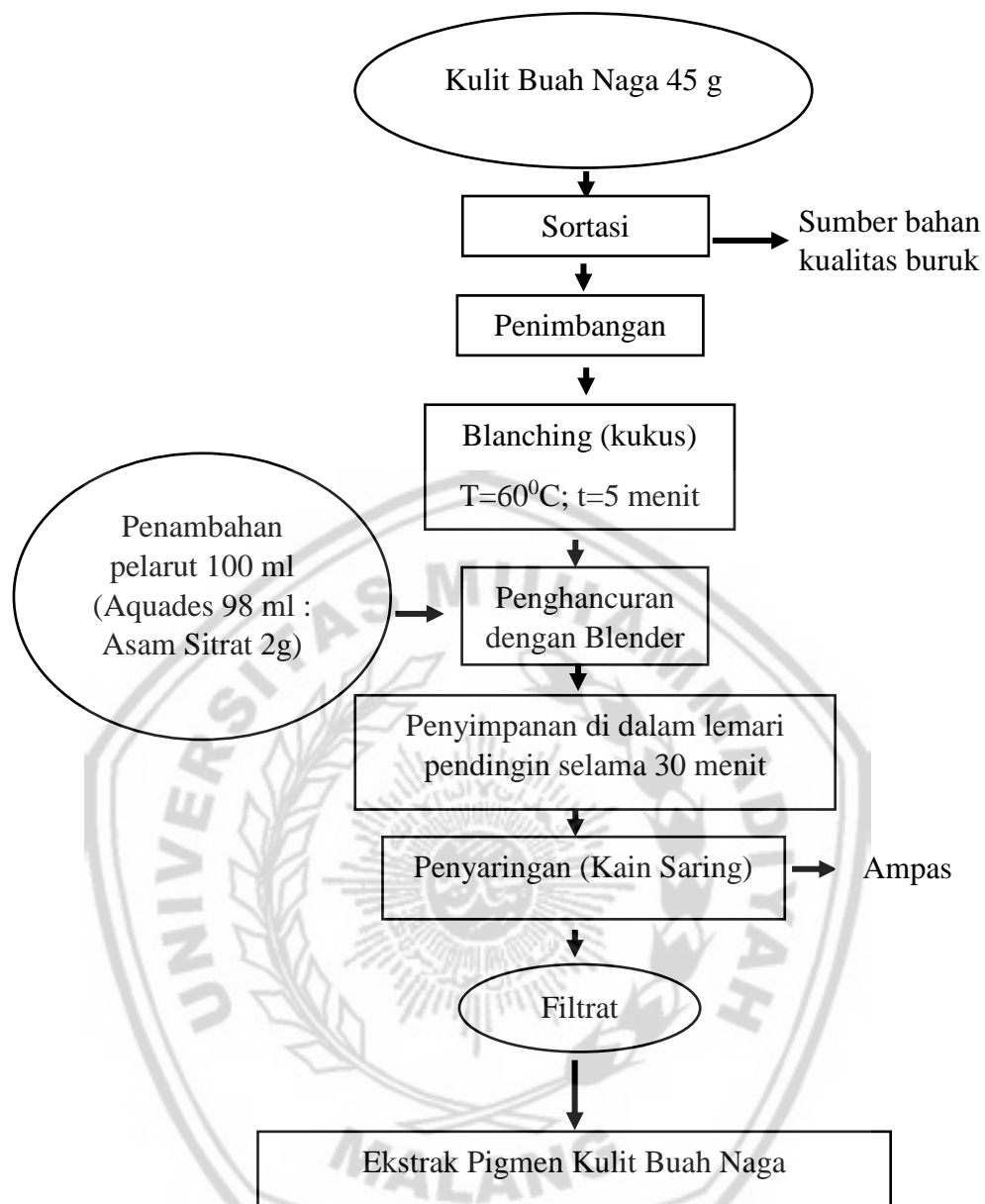
Tomat 7,5% b/b

P0= Tanpa Penambahan Ekstrak Pigmen

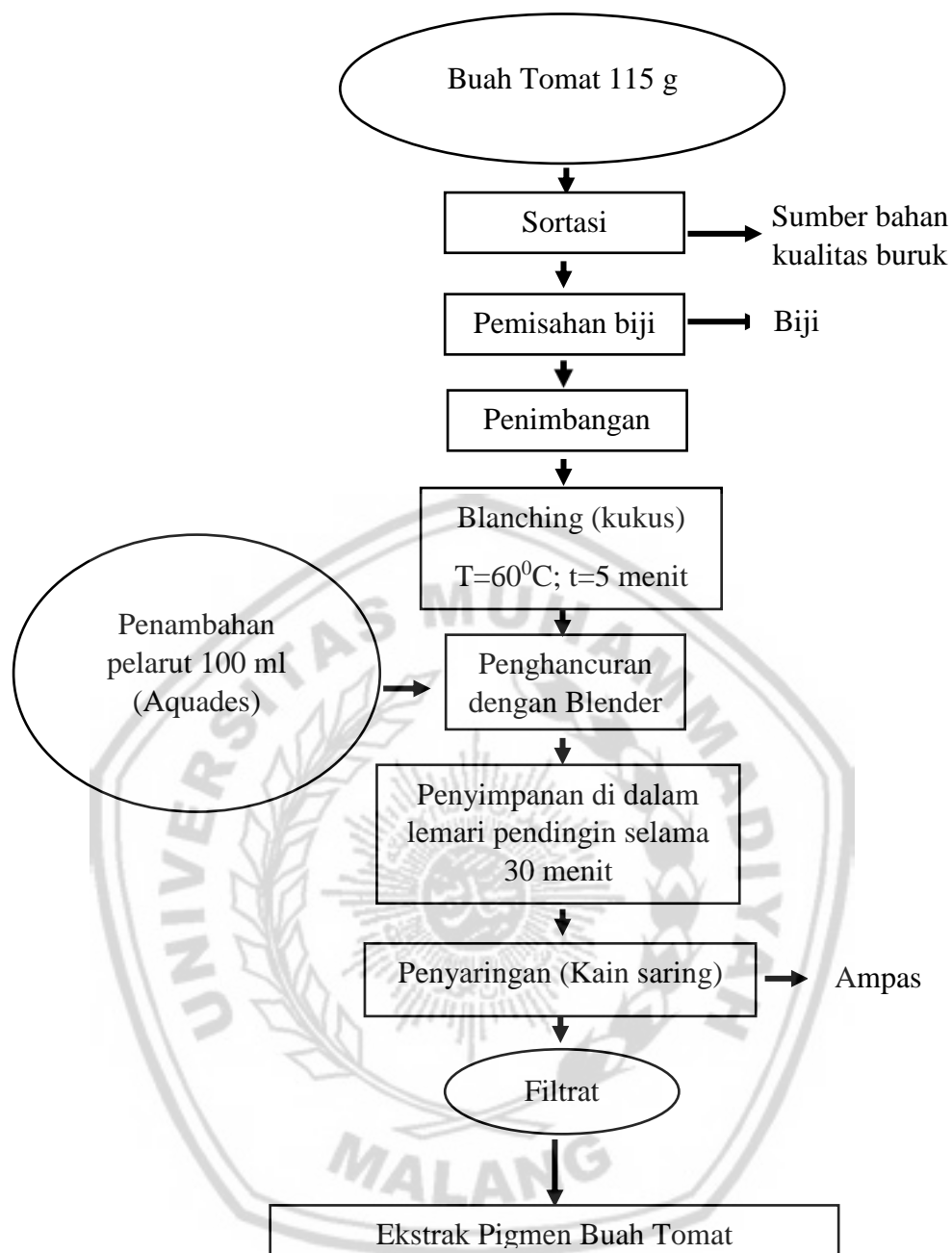
### **3.4 Tahapan Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Proses Ekstraksi Dan Pembuatan Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga dan buah tomat**

Proses ekstraksi pigmen dari dua macam bahan, yaitu antara lain kulit buah naga dan buah tomat. penimbangan bahan baku sebanyak 45 g. Kulit Buah Naga dan 115 buah tomat. Penghancuran bahan dengan menambahkan pelarut (aquades 98 ml : asam sitrat 2g) dalam 100ml menggunakan blender pada kulit buah naga sedangkan pada buah tomat hanya menggunakan pelarut aquades 100ml. Lama penghancuran hingga 15 – 20 menit. Filtrat disimpan atau dimaserasi selama 30 menit pada lemari pendingin dengan suhu 10 – 12 ° C agar terekstrak maksimal. Filtrat disaring menggunakan kain saring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Kemudian ekstrak pigmen ditambahkan pada es krim yoghurt sesuai formulasi diatas.



**Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Pigmen Kulit Buah Naga (Saati dkk, 2012)**



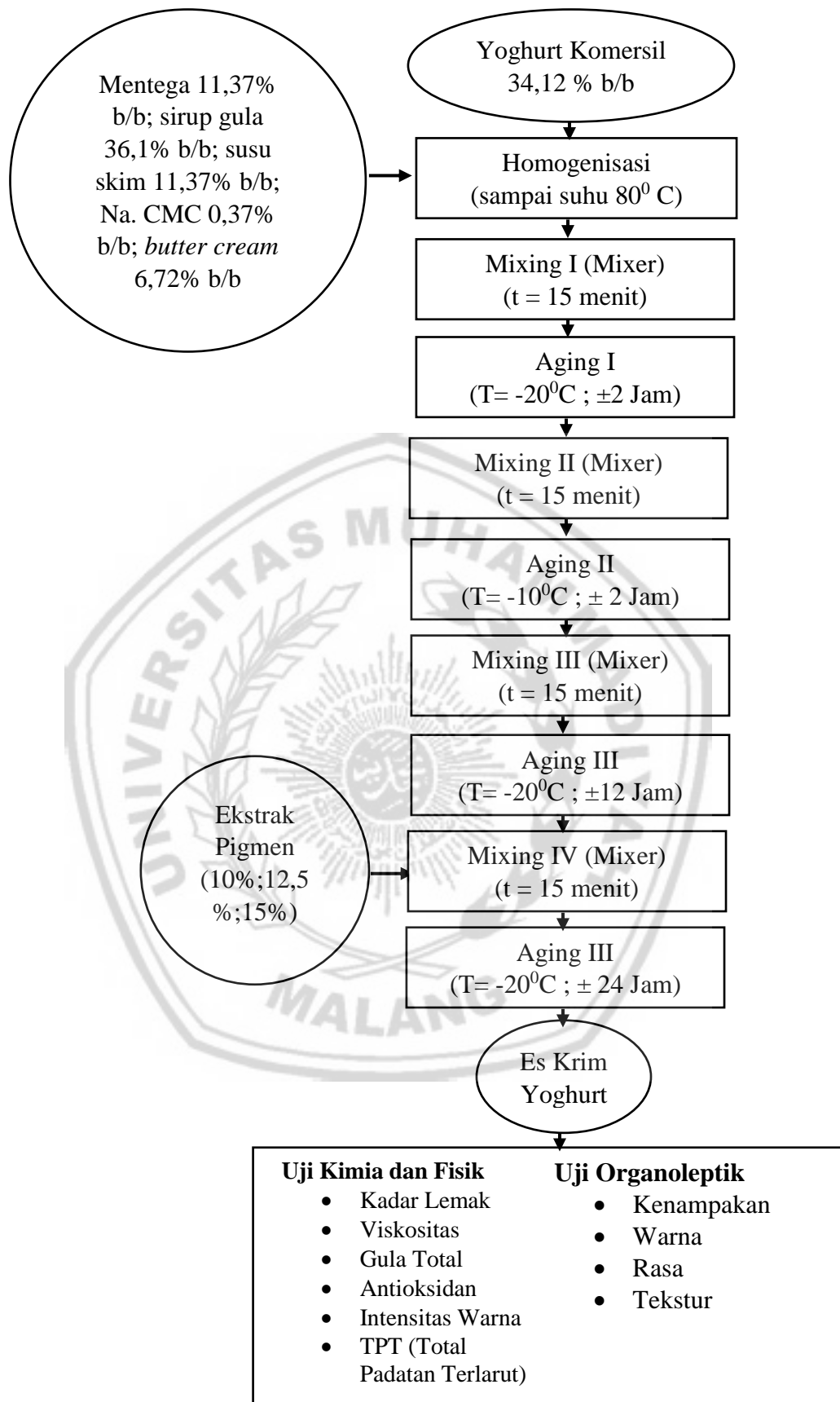
**Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Pigmen Buah Tomat (Mu'nisa, 2012)**

### 3.4.2 Proses Pembuatan Es Krim Yoghurt

Pada proses pembuatan Es Krim yoghurt langkah awal yaitu dengan memanaskan air dalam panci  $\pm 300$  ml sampai mendidih. Lalu memasukan mentega 80 gram dan mengaduknya sampai tercampur dengan air. Menambahkan gula 160

gram, susu skim 120 gram dan Na-CMC 0,4 %  $\pm$  1 gram kemudian melakukan proses homogenisasi dengan mixer. Memasukkan Susu Fermentasi lembut  $\pm$  320 ml kedalam adonan, aduk sampai suhu mencapai 80<sup>0</sup> C dan mempertahankan selama 25 detik. Memasukkan adonan dalam loyang dan melakukan pencampuran menggunakan mixer selama  $\pm$  10 menit (*Mixing I*). Mendinginkan adonan pada suhu -10<sup>0</sup> C selama  $\pm$  3 jam (*Aging I*). Mengaduk adonan dengan mixer selama  $\pm$  10 menit (*Mixing II*). Mendinginkan adonan pada suhu - 10<sup>0</sup> C selama  $\pm$  12 jam (*Aging II*). Mengaduk adonan dengan mixer selama  $\pm$  10 menit dan menambahkan konsentrat pigmen sesuai konsentrasi dan sumber pigmen (*Mixing III*). Mendinginkan pada *freezer* dengan suhu - 110<sup>0</sup> C selama  $\pm$  24 jam.

Formulasi pembuatan es krim yoghurt dalam 100% b/b bahan baku adalah yoghurt komersil 34,12%, mentega 11,37%, sirup gula 36,1%, susu skim 11,37%, Na. CMC 0,37%, *butter cream* 6,72%. Perbandingan formulasi yang didapatkan diperoleh dari penelitian pendahuluan yang diambil perbandingan formulasi yang terbaik.



**Gambar 6. Diagram Alir Pembuatan Es Krim Yoghurt (Deddy, 2013(dengan modifikasi))**

### 3.4.3 Parameter Pengamatan

#### 3.4.3.1 Penentuan Kadar Lemak Metode Hidrolisis Asam (AOAC, 1998)

1. Siapkan cawan kosong dan menimbang beratnya
2. Siapkan sampel 2 g, menambahkan 4 ml etanol 96%, tambahkan kembali HCl 10 ml (25 HCl + 11 aquaedes)
3. Letakkan pada waterbath pada suhu 70°C selama 30 – 40 menit, kemudian menambahkan etanol 10 ml
4. Dinginkan, kemudian tambahkan dengan petroleum eter sebanyak 25 ml kemudian *vortex* selama 1 menit
5. Masukkan dalam corong, kemudian terjadi 2 lapisan. Lapisan atas diambil sedangkan untuk lapisan bawah dibuang
6. Masukkan ke dalam corong pisah dengan ditambahkan petroleum eter sebanyak 15 ml. pada perlakuan ini dilakukan sekali
7. Keringkan cawan porselin ke dalam oven kemudian timbang

#### 3.4.3.2 Viskositas (Yuwono dkk, 2001)

1. Memilih *spindle* sesuai dengan konsentrasi bahan atau tingkat kekentalan bahan
2. Masukkan pangkal *spindle* pada lubang penghubung rotor
3. Turunkan *spindle* pada bahan sampai batas, kemudian mengatur kecepatan *spindle* dan tunggu hingga stabil
4. Matikan pengatur kecepatan dan baca skala yang ditunjukkan
5. Mengulang hal yang sama hingga didapatkan data yang valid



### 3.4.3.3 Penetapan Gula Total Metode Anthrone (Willis, 1954)

#### A. Pembuatan Kurva Standar

1. Pipet ke dalam tabung reaksi 0,0 (blanko) ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mL larutan glukosa standar. Tambahkan air sampai total volume masing-masing tabung reaksi 1 mL.
2. Tambahkan dengan cepat 5 mL pereaksi Anthrone ke dalam masing-masing tabung reaksi.
3. Tutup tabung reaksi dan campur merata.
4. Tempatkan dalam waterbath 100°C selama 12 menit (rendam dalam air mendidih).
5. Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir.
6. Pindahkan dalam kuvet dan baca absorbansinya pada 630 nm
7. Buat hubungan antara absorbansi dan mg glukosa.

#### B. Penetapan Gula pada Sampel

1. Persiapan sampel untuk penetapan gula
  - a. Sampel sebanyak 25 mL diencerkan dengan aquades sebanyak 200 ml kemudian menambahkan 2 g  $\text{CaCO}_3$  dan larutan digojog-gojog agar homogen
  - b. Didihkan selama 30 menit di pendingin balik
  - c. Dinginkan sampel dengan cepat dengan air mengalir
  - d. Tambahkan Pb asetat sampai jernih
  - e. Lakukan penyaringan dengan menggunakan penyaring vakum
  - f. Ambil filtrat dan menambahkan Na Oksalat dan biarkan mengendap
  - g. Saring sampel dengan penyaring vakum.
2. Masukkan 1 mL sampel (dari persiapan sampel) ke dalam tabung reaksi.

3. Selanjutnya lakukan tahap A.2 sampai A.6 (seperti pada pembuatan kurva standar).
4. Tentukan konsentrasi Gula total dalam sampel dengan menghubungkan dengan kurva standar:

$$\% \text{ Total Gula} = \frac{\text{Mg Gula} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Mg Bahan}} \times 100\%$$

$$*FP = \frac{\text{volume filtrat yang diencerkan}}{\text{volume filtrat yang diambil}}$$

#### 3.4.3.4 Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Blois, 1958 dalam Hanani *et al.*, 2005)

1. Larutkan serbuk DPPH sebanyak 1,182 mg ke dalam 50 mL metanol.
2. Memipet 1 mL 0,1 mP DPPH dan menambah 1 mL senyawa uji
3. Encarkan dengan methanol sampai 5 mL.
4. Kocok campuran larutan tersebut dengan vortex selama 10 detik.
5. Selanjutnya, menginkubasi larutan tersebut pada suhu 37 °C selama 20 menit.  
Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat.
6. Lakukan Pegukuran penurunan absorbansi ini dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm (As).
7. Gunakan larutan blanko yang terdiri dari 33,33 µL metanol dalam 1 mL DPPH dan mengukurnya pada panjang gelombang yang sama (Ab). Trolox digunakan sebagai kontrol positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dengan tiga kali pengulangan (triplicate). Menghitung aktivitas penghambatan radikal dengan rumus di bawah ini:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

#### 3.4.3.5 Intensitas Warna (Yuwono, 2001)

1. Menyiapkan sampel dalam plastik PP (*polypropilene*) atau transparan
2. Menghidupkan colour reader
3. Menentukan target L, a, b. dimana, L adalah kecerahan, nilai positif (+) berarti cerah, nilai negatif (-) berarti suram; Axis a nilai positif (+) berarti merah, nilai (-) berarti hijau ; Axis b, nilai (+) berarti kuning, nilai (-) berarti biru
4. Mengukur warna

#### 3.4.3.6 TPT (Total Padatan Terlarut) (Sukardi, 2015)

1. Menyiapkan alat dan bahan, Membuka penutup kaca prisma, lalu meneteskan aquades satu tetes dengan menggunakan pipet tetes, menutup kaca prisma perlahan dan memastikan aquades memenuhi kaca prisma
2. Mengarahkan refraktometer ke cahaya terang, melihat pembacaan skala dapat melalui lubang teropong, jika skala kabur, putar lubang teropong dan pastikan garis biru tepat pada 0° Brix
3. Membuka dan membersihkan kaca prisma menggunakan bahan lembut dan kering dengan cara satu arah
4. Membuka kembali kaca prisma kemudian meneteskan sampel sebanyak 1 tetes kemudian tutup kaca prisma
5. Melihat skala melalui lubang teropong, batas garis skala adalah antara garis putih dan biru

#### 3.4.3.7 Analisa Organoleptik *Hedonic Scale* (Rahayu, 2001)

Uji organoleptik yang dilakukan meliputi kenampakan, warna, kekentalan dan rasa. Pengujian menggunakan uji skala *hedonic* yang terdiri dari 5 nilai dengan 5 pernyataan dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Skor Organoleptik**

<b>No</b>	<b>Skor Kenampakan</b>	<b>Skor Warna</b>	<b>Skor Tekstur</b>	<b>Skor Rasa</b>
<b>1</b>	Sangat tidak suka	Kuning	Sangat tidak halus	Sangat Asam
<b>2</b>	Tidak suka	Kuning Kemerahan	Tidak halus	Asam
<b>3</b>	Cukup suka	Jingga	Cukup halus	Manis Keasaman
<b>4</b>	Suka	Merah Kekuningan	Kental	Manis
<b>5</b>	Sangat suka	Merah	Sangat halus	Sangat Manis

Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel secara acak 10 macam sampel yang masing – masing telah diberi kode yang berbeda kepada 15 panelis. Selanjutnya panelis diminta memberi penilaian terhadap sampel sesuai skala hedonik yang ada.

### 3.5 Analisis Data

Pada analisa bahan baku dilakukan analisis aktivitas antioksidan dan juga kandungan lainnya seperti kadar air. Hal ini dilakukan untuk mengetahui berapa aktivitas antioksidan dalam bahan baku. Pada analisis data es krim yoghurt yang telah ditambahkan ekstrak pigmen kulit buah naga dan buah tomat dilakukan analisa data dengan anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hal ini untuk mengetahui pengaruh yang terjadi antara variasi sumber dan konsentrasi ekstrak pigmen terhadap es krim yoghurt. Pada analisa organoleptik dilakukan analisa menggunakan Kruskal wallis yang kemudian dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Tukey dengan taraf  $\alpha$  5%.